

5511.2/0.3

低温处理对籼稻花培成苗的影响

邓 才 生
 (三明市农科所)

利用生物工程组织培养技术, 为水稻育种提供一定的群体, 是花培育种的基础。我国的花培育种经验表明, 每个群体只要有一百丛花粉植株就够了。目前, 籼稻花培绿苗率只有 0.5% 左右, 98% 以上则为白苗, 这样低的绿苗率, 要生产出一百丛花粉植株, 工作量非常大, 这由于籼稻花培不仅出愈率和绿苗分

化率均低外, 材料之间差异也很大, 为了提高花培绿苗率, 我们对籼稻培养成苗的一些主要因素作了探讨, 本文就此进行分析总结。

一、材料与方法:

1. 水稻花培材料 20 份, 均为籼稻品(系)种, 由本所水稻育种室籼稻组提供, 其组合代号见表(1)。

表 1 不用材料对低温处理天数的反应

材料	8C处理 天数	出愈率 (%)	绿苗率 (%)	材料	8C处理 天数	出愈率 (%)	绿苗率 (%)
1095	8	2.75	0.25	1095	6	1	0
1102	9	8	0.25	1102	7	1.90	0
1103	11	8	0.50	1103	14	3.10	0.25
1020	12	3.80	0.80	1020	19	1.20	0.2
1127	12	0.80	0.40	1127	20	0.40	0
1094	11	8.50	0.35	1094	15	3	0.15
1100	10	4.25	2	1096	3	4	
1114	10	6	4	1110	3	0.50	
1068	10	4.50	0.83	1115	3	1.50	
1066	10	12	5.45	1097	3	7.80	
1101	3	1.50		1113	3	1.50	
1122	3	1		1124	3	3	
1072	3	9		1073	3	0	

2. 诱导培养采用 SK₃、M₈ 二种培养基, 激素用量 SK₃ 为 2.4-D2mg/L、MA2mg/

L、IAA1mg/L、ABA1mg/L、YE1000mg/L; M₈ 为 2.4-D2mg/L、NAA2mg/L、KT1mg/

L. 两种培养基均加0.76%琼脂固化;蔗糖浓度5%,PH5.8。分化培养:采用MS培养基,激素用量 NAA0.5mg/L、IAA0.5mg/L、LH300mg/L、6-BA4mg/L、蔗糖 2.5% PH5.7。诱导和分化培养基均在1.2kg/cm²压力下灭菌15~20分钟。

3. 花粉采集与接种:在晴天露水干后田间取水稻单核靠边期即“穗苞大而不破”主穗和第一次分蘖穗,室内处理后置8℃冰箱进行不同天数的低温预处理。接种前经75%酒精表面消毒后剥取幼穗于净化工作台再进行幼穗消毒无菌操作;每50ml三角瓶内接花药100枚,而后置于25℃±1℃暗培养,经一个月左右诱导产生愈伤组织后,把愈伤组织转入分化培养基上进行分化培养,培养温度26℃±1℃,每天在2000LX光强下光照14小时。

二、结果分析

1. 各供试材料对低温处理天数的反应。表1花药接种前经8℃、10天低温处理,可普遍提高花药出愈率和绿苗率。20个材料不同时间的低温预处理中,有10个材料8℃处理3天,平均出愈率2.98%,均未分化出绿苗;4个材料8℃处理10天出愈率最高,平均6.3%,绿苗率3.06%,其余6个材料在8℃8-12天处理的,出愈率0.8-8.5%,平均5.3%,绿苗率0.25-0.8%,平均0.44%。说明在8℃低温预处理10±2天比较适宜,过长或过短天数处理都不利于出愈率和绿苗分化率。这可能与小孢子对低温的耐受力有关。

许多作者研究发现,处理时间过长,超过小孢子耐受力,导致小孢子受伤,细胞核解体,大大降低了材料的出愈率,影响绿苗分

化。处理时间短,可能由于母体生活条件下离纤培养条件相差悬殊,使小孢子在生理上还不适应,造成大量死亡,少数经过较长时间的适应才存活下来,所以花粉母细胞发育较迟缓,而适宜天数处理的小孢子可逐渐降低原来的代谢活动,直到达一定程度,利于小孢子适应新的培养环境,并启动一种新的代谢活动过程,促使较多的小孢子得以存活并按原来的发育途径进行发育。

2. 培养基对不同材料的影响。前人在筛选籼稻培养基方面做了许多有益的工作,当前国内外常用籼稻培养基有五种分别是:MS、SK₃、合5、L₈、B₅。但不同材料对培养基具有一定的选择性。据有关文献报导:江苏农科院在总结前人研究的基础上配制出一种新的M₈籼稻培养基,它是在N₆培养基的基础上,降低了NH₄⁺/NO₂⁻水平,铁盐浓度加倍,甘氨酸、VB₁和VB₆增加5倍,烟酸增加到6倍,添加丙氨酸10mg/L,和MS中的CuCO-Mo配制而成的。经过多年试验,M₈培养基在诱导培养上与五种籼稻培养基同步,但绿苗分化率却高于五种培养基培养,实验证明了M₈培养基比其五种培养基较优越。我们也采用了SK₃培养基进行了比较实验,实验结果见表(2),SK₃培养基培养平均出愈率1.7%,绿苗率0.05%,M₈培养基的平均出愈率5.7%,绿苗率0.8%,实验结果表明M₈培养基其出愈率和绿苗率高于SK₃培养基,这与有关报导相吻合,由此说明了培养基中各成分,激素用量恰当与否,决定花药培养成功率。要想解决籼稻培养难的问题,还得在培养基上进行研究。

表2 两种培养基效果比较

培养基	SK ₁ 培养基					M ₁ 培养基				
	花药数	分化块数	绿苗数	出愈率%	绿苗率%	花药数	分化块数	绿苗数	出愈率%	绿苗率%
1101	400					200	3		1.50	
1095	200	6	2	3	1	400	15	1	3.75	0.25
1114	200					200	12	3	6	4
1122	400					300	3		1	
1072	200	3		1.50		100	9		9	
1096	300	3		1		300	12		4	
1102	200					400	39	2	9.75	0.50
1103	200	30		15		500	51	2	10.2	0.40
1110	500	3				600	3		0.50	
1115	300					400	6		1.50	
1068	600					600	27	5	4.50	0.83
1066	200	24	2	12	1	400	48	21	12	5.25
1097	300	9				500	39		7.80	
1100	1000	15	1	1.50	0.1	1200	51	24	4.25	2
1113	300					200	3		1.50	
1127	100					500	6	2	1.2	0.4
1020	500					300	15	3	5	1
1094	2100	54		2.50		1400	162	7	11.57	0.5
1124	300					100	3		3	
1073	200					300				

三、讨论

籼稻花培,其出愈率和绿苗率受许多因素的影响,关键在于起决定的主因素方面。有关报导认为影响籼稻花培主因素是材料本身、培养基、材料预处理等。有效控制其主因素,对籼稻花培起着重要作用,要想获得更高的绿苗率,就必须注意主因素的影响,兼顾次要因素,有效控制不利因素的产生。实验表明,低温预处理是提高籼稻出愈率和绿苗率

的有效措施。近几年,一些研究者广泛地报导了低温处理在籼稻花培上的效应,这一措施很值得在籼稻培养中作进一步的探讨。

关于利用适合的籼稻培养基,许多研究者有不同报导;M₁培养基虽然具有一定的优越性,但适应性不是最广泛的,各种培养基都有它的特点和不足。目前一些研究者正致力于研究寻找出一种具有广泛适应的培养基,以满足籼稻组培的要求。